

애월과 구좌 꽃자왈의 토양특성과 미생물 다양성에 관한 고찰

고석형*, 김종식¹⁾, 김대신, 김영림, 신창훈
제주특별자치도 세계유산·한라산연구원, ¹⁾경북해양바이오산업연구원

서 론

제주특별자치도 꽃자왈 보전 및 관리 조례가 2014년 4월에 공포되면서 꽃자왈은 제주도 화산활동 중 분출한 용암류가 만들어낸 불규칙한 암괴지대로 숲과 덩굴 등 다양한 식생을 이루는 곳으로 정의하고 있다. 또한 꽃자왈 중 특별히 보호할 필요가 있다고 인정되어 지정·고시하는 지역을 꽃자왈 보호지역이라고 하고 있다. 이들 꽃자왈 보호지역 지정은 생태적, 지질적 및 역사문화적 요소로 나뉘어 보호지역 기준이 된다. 예를 들어 생태적 요소는 멸종위기 및 천연기념물 동식물 군락지와 서식지 등이며, 지질적 요소는 동굴, 습곡 등 특이한 지형과 지질 분포지역, 역사문화적 요소는 농경, 수렵, 생활 유적이 소재한 지역을 의미하는 것으로 제주도민과 함께 명맥을 이어온 삶의 터전이라 할 수 있다. 이와 같이 꽃자왈 정의와 꽃자왈 보호지역 지정은 꽃자왈 보전과 관리에 있어 매우 중요한 사항임에는 틀림이 없다.

국립산림과학원은 꽃자왈의 보전과 이용기술을 개발하고자 2012년부터 선홍과 저지-청수 꽃자왈 국유시험림을 대상으로 동식물, 수문, 지질, 역사문화 등의 분야에 대한 연구가 이뤄지고 있다. 한편 제주특별자치도 세계유산·한라산연구원도 2012년부터 꽃자왈 지역을 대상으로 토양 및 토양미생물에 관한 연구를 수행하고 있다. 이에 관한 연구자료 구축도 꽃자왈 보호지역 선정에 대하여 학술적으로 중요한 부분 중의 하나라고 생각된다.

꽃자왈에 관한 토양특성 연구는 제주특별자치도 한라산연구소(2013)에 의해

* 교신저자 ; 전화: 064-710-7578, e-mail: ksh5251@korea.kr

서 네 개 꽃자왈 지대에 대한 이화학적 성질, 광물학적 분석, 인지질 지방산 (PLFA) 분석 등이 보고되었다. 꽃자왈에 관한 미생물의 연구는 Kim *et al.*(2014), Lee *et al.*(2015a; 2015b; 2015c)에 의해서 꽃자왈 신속 및 신종의 발표가 이루어졌으며, Kim *et al.*(2014)과 Kim *et al.*(2015)에 의해서 꽃자왈 Archaea 및 세균의 다양성 연구가 발표되었다. Kim *et al.*(2015)은 교래 꽃자왈 토양의 pyrosequencing을 처음으로 수행하여 밝혀진 적이 없는 꽃자왈 토양 미생물의 전체 모습을 제시하였으며, 더 많은 연구를 통해서 꽃자왈 고유의 미생물 생태시스템을 규명할 가능성을 제시하였다.

본 연구의 목적은 꽃자왈 지역의 토양 및 미생물의 다양성 분석을 통해서 꽃자왈 토양의 미생물에 대한 생태학적인 이해를 증진시키고, 꽃자왈 독특성에 대한 학술적인 데이터를 제시하고자 한다. 2013년부터 시작된 조천-함덕의 교래 꽃자왈과 한경-안덕의 산양 꽃자왈 연구에 이어서, 2015년에 추진 중인 애월 꽃자왈과 구좌-성산의 구좌 꽃자왈 연구는 처음으로 토양의 이화학적 특성 연구 및 pyrosequencing 분석법을 적용하였으며, 그에 따른 미생물 다양성 연구를 진행하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시료채취

토양과 미생물 분석시료는 애월, 구좌 꽃자왈 및 대조구인 한라산 5·16 도로 주변으로 3개의 채취지점에서 봄, 여름 및 가을에 각각 6점씩 총 54점을 채취하였다(그림 1). 시료채취 지점인 애월 꽃자왈 중부(AWJB)는 해발 510m로 꽃자왈 분포 위치상 애월 꽃자왈 중간지역에, 구좌 꽃자왈(GSDG)은 해발 150m로 구좌-성산 꽃자왈 지역에, 대조구(Control)인 한라산 5·16 도로주변은 해발 650m로 한라산국립공원 지역에 속하였다. 본 보고서에는 애월 꽃자왈은 AW, 구좌 꽃자왈은 GS 및 대조구는 C로 표기하였다. 토양 및 토양미생물 시료는 전형적으로 꽃자왈 형태를 띠는 곳에서 채취하였으며 많은 암석과 뿌리 등으로 인하여 시료 채취가 용이하지 않았다. 시료 채취에 대한 오류를 줄이기 위해서 하나의 토양 시료 채취지점에 대하여 근처 6점을 합하여 1점으로 정하였다. 대조구는 한라산 국립공원에 위치하며 꽃자왈 지역보다는 토심이 깊고 비교적 시료채취가 용이

하였다. 토양미생물 분석을 위한 토양시료는 18점으로 봄에 채취한 토양을 이용하였으며 토양을 풍건시키지 않고 2mm 체로 쳐서 코니칼 튜브에 담아 냉장보관하였다. 토양의 이화학적 성질 분석을 위한 토양시료는 36점으로 풍건시킨 후 2 mm 체로 쳐서 폴리에틸렌병에 보관하면서 분석 시 사용하였다.

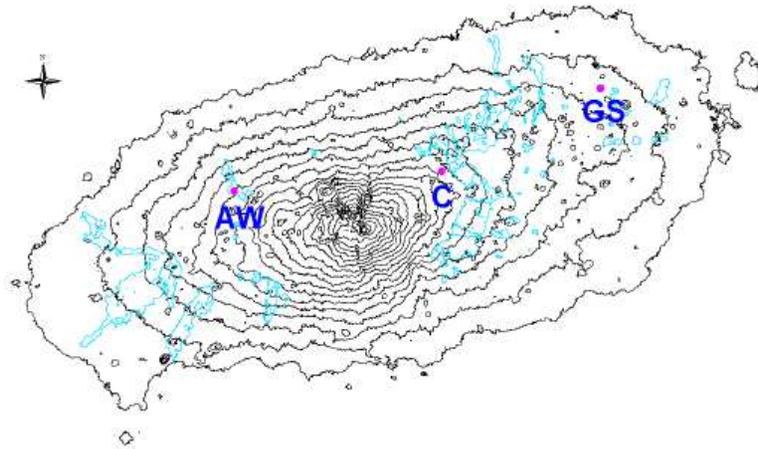


그림 1. 토양 및 토양미생물 시료 채취지점

● : 시료 채취지점, AW : 애일 곳자왈, GS : 구좌 곳자왈,
C : 대조구(한라산 5·16 도로주변).

2. 분석방법

1) 토양의 이화학적 성질

토양의 이화학적 성질은 농촌진흥청 토양분석법(NIAST, 2000)에 준하여 분석하였다. 입자밀도는 pycnometer 방법을 응용하여 측정하였다. 입도분석은 풍건토양 10g을 정량하여 500ml Tall beaker에 담은 후 증류수를 300ml씩 가하고 30% 과산화수소를 25ml씩 가한 뒤 90℃로 가열된 전열판 위에서 유기물을 분해하였다. 과산화수소 분해가 끝나면 원심분리병에 분산제 5% sodium hexametaphosphate 10ml를 가한 후 약 18시간 정도를 진탕시키면서 완전히 분산시켰다. 이후 Pipette법과 체분석을 이용하여 측정하였다. 토양 pH는 토양과 증류수의 비를 1 : 5로 하여 토양 5g에 증류수 25mL를 첨가한 다음 진탕하여 pH meter(Orion Star A211, Thermo)를 이용하여 측정하였다. 전기전도도는 pH

를 측정하고 남은 여액을 Conductivity Meter(CM-11P TOA Electronics Ltd., Japan)를 이용하여 측정하였다. 토양 유기물함량은 Walkley and Black법으로 분석하였고, 유효인산은 Lancaster법을 이용하여 UV/Vis Spectrometer(Lambda 25, PerkinElmer)로 측정하였다. 총 질소함량은 토양시료를 황산으로 분해한 다음 Kjeldahl법으로 자동질소분석장치(Kjeltec analyzer unit, Foss, USA)를 이용하여 분석하였다. 교환성양이온은 1N ammonium acetate(pH 7.0)용액 50mL를 가하여 30분간 진탕한 다음 여과하여 얻어진 여액을 ICP-OES(JY 138 Ultrace, Jobin Yvon)를 이용하여 분석하였다. 양이온교환용량은 1N ammonium acetate(pH 7.0)용액으로 포화 후 ethanol로 과잉의 NH_4^+ 세척한 후 증류하여 정량하였다.

2) 토양미생물 분석

(1) 토양 DNA의 추출

토양 DNA는 FastDNA SPIN kit for Soil(QBiogene Inc., Vista, CA, USA)을 이용하여 추출하였다.

(2) Pyrosequencing

① DNA의 전처리

가. Barcode primer를 이용한 PCR 수행

전체 미생물의 다양성을 분석하기 위하여 16S rRNA 유전자 중 가변영역인 V1~V3부분을 특이적으로 증폭할 수 있는 primer를 제작하였다. 세균 특이적 primer에는 27F(5'-GAG TTT GAT CMT GGC TCA G-3')/800R (5'-TAC CAG GGT ATC TAA TCC-3')에 sequencing을 진행하는 각각의 역방향 primer에는 pyrosequencing을 수행하기 위한 adaptor A(5'-CCA TCT CAT CCC TGC GTG TCT CCG AC-3')부분과 핵심 염기서열인 TCAG, 10개의 염기서열로 이루어진 각각의 barcode, linker를 붙이고, sequencing을 하지 않는 정방향 primer에는 adaptor B(5'-CCT ATC CCC TGT GTG CCT TGG CAG TC-3')와 핵심 염기서열과 각각의 linker를 붙여 제작하였다(표 1). 추출된 미생물의 전체 genomic를 주형으로 삼아 제작된 primer로 PCR을 수행하였다(표 2).

표 1. Barcoded-PCR primer에 사용된 adaptor

이름	염기서열(5'-3')
Adaptor	
Forward primer adaptor B	CCTATCCCCTGTGTGCCTTGGCA GTCTCAG
Reverse primer adaptor A	CCATCTCATCCCCTGCGTGTCTCC GACTCAG

표 2. PCR master mix 및 PCR 프로그램 조건

Master mix		PCR program			
Reagent	1 Amplicon	Step	℃	Min	Cycle
Forward Primer(10μM)	1μℓ	Initial denaturation	94	3	1
Reverse Primer(10μM)	1μℓ	Denaturation	94	15(sec)	25~35
dNTP mix(10mM each)	0.5μℓ	Annealing	55~65	45(sec)	
Faststart 10X Buffer #2	2.5μℓ	Extention	72	1	
Faststart HiFi Polymerase(5U/μℓ)	0.25μℓ	Final Extention	72	8	
Molecular Biology Grade Water	18.75μℓ	Hold	4	∞	
Total	24μℓ				

② GS-FLX Plus Run

가. Microreactor 형성

Library ssDNA를 DNA Capture beads와 섞어준다. Capture bead에는 library의 A adaptor와 결합할 수 있는 상보적인 primer가 존재하여 library와 결합이 가능하다. 이때 한 가닥의 single strand와 하나의 capture bead가 결합시키는 것이 중요하다. DNA가 결합된 capture bead와 emulsion oil을 shaker를 이용하여 섞어준다. 결국 한 개의 oil에는 한 개의 capture bead, 한 가닥의 library DNA가 존재하며, 이를 "Micro-reactor"라 명한다. 이 과정은 sequencing결과를 결정하는 데 중요한 요인이 되며, 혼합해주는 농도와 shaking 정도를 잘 조절하는 것이 관건이다.

나. Emulsion PCR

Microreactor가 형성되면 PCR reagent와 반응하여 각각의 microreactor내부에서 clonal amplification이 일어나고 대략 1000분자 증폭이 일어나면 oil막이 깨져 amplified DNA를 얻게 된다. 이는 sequencing이 이루어지는 최소 단위가 되며 microreactor 1개당 하나의 sequencing결과가 생성된다.

다. PicoTiterPlate packing

Sequencing을 하기 위한 마지막 단계로 sequencing이 일어나는 PicoTiterPlate에 Micro-reactor를 넣어준다. Picotiterplate는 직경 44um pore를 가지고 있어 Micro-reactor가 pore에 하나씩 들어가게 된다. 적정농도의 Micro-reactor를 plate에 흘려주고 centrifugation을 통해 deposit 시킨다. 그 후 pore의 공간을 채우기 위해 packing beads를 넣고 sequencing을 하기위한 enzyme beads를 마지막으로 넣고 centrifugation을 통해 packing 완료한다.

라. Pyrosequencing 수행

100만 개의 PicoTiter pore마다 Pyrosequencing의 원리를 이용한 연속적인 sequencing이 이루어진다. 이는 동시에 수만 개의 signal을 얻음으로써 sequencing의 효율을 높이는 작용을 한다. 우선 polymerase에 의해 A adapter에 결합되어 있는 key sequence부터 합성이 시작되고 이로부터 얻어지는 signal은 각 nucleotide가 나타내는 signal의 정도를 나타내는 기준점으로 작용된다. Pyrosequencing은 하나의 nucleotide가 합성되면서 n상태가 n+1상태가 되고 이때 부산물로 생성되는 PPi가 Adenylphosphate sulfate(APS)와 반응하여 ATP를 형성하게 된다. 생성된 ATP는 luciferase에 의해 luciferin과 반응하여 생성되는 signal을 통해 sequencing이 이루어진다. Pyrosequencing의 경우 4개의 nucleotide를 G-C-T-A 순으로 넣어 주어 sequencing을 진행하게 된다.

③ Data 분석

Pyrosequencing data는 Kim *et al.*(2015)와 같은 방법으로 분석하였는데, 주로 R VEGAN package(Oksanen *et al.* 2011), MOTHUR program(Schloss *et al.* 2009)와 SILVA database(Pruesse *et al.* 2007)를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 조사지 토양의 이화학적 성질

애월, 구좌 곶자왈 및 대조구인 한라산 5·16 도로주변 토양의 이화학적 성질은 표 3과 같으며, 분석결과는 봄과 여름철 분석값에 대한 평균치로 나타내었다. 애월, 구좌 곶자왈 및 대조구 토양의 입도분석 결과 미사와 점토함량이 많은 미사질식양토가 주를 이뤘다. 애월, 구좌 곶자왈 및 대조구 토양의 평균 입자밀도는 각각 1.54, 1.70 및 1.83g/cm³로 화산재의 영향을 받은 화산회토의 특성을 나타내었다.

표 3. 애월, 구좌 곶자왈 및 대조구의 이화학적 성질

시료채취 지역	입자 밀도 (g/cm ³)	토성명	토양 pH (1:5)	전기 전도도 (dS/m)	유기물 함량 (%)	유효 인산 (mg/kg)	총 질소 (%)	교환성 칼륨	교환성 칼슘	교환성 마그네슘	교환성 나트륨	양이온 교환용량 (cmol _c /kg)
AW-1	1.59	미사질양토	4.63	4.80	46.55	66	1.57	0.94	25.80	6.75	0.52	49.50
AW-2	1.45	미사질양토	4.71	6.88	47.72	116	1.68	1.21	31.96	9.87	0.43	41.55
AW-3	1.49	미사질식양토	4.69	6.95	49.57	113	1.54	1.06	35.40	9.44	0.46	48.20
AW-4	1.50	미사질양토	4.70	6.11	50.83	97	1.68	1.03	33.21	8.70	0.47	41.45
AW-5	1.75	미사질식양토	4.80	6.10	45.76	79	1.51	1.05	40.19	6.96	0.44	42.20
AW-6	1.46	미사질양토	4.82	7.76	49.92	117	1.68	1.40	51.60	9.71	0.47	49.75
평균	1.54		4.72	6.43	48.39	98	1.61	1.12	36.36	8.57	0.46	45.44
GS-1	1.68	식양토	4.98	3.19	33.03	13	1.42	0.64	13.30	4.04	0.50	50.00
GS-2	1.63	미사질식양토	5.25	1.71	32.14	15	1.38	0.72	16.87	3.75	0.46	47.70
GS-3	1.59	미사질양토	5.07	3.42	31.91	39	1.45	0.72	20.06	4.77	0.48	54.45
GS-4	1.69	미사질식양토	5.28	2.30	30.24	10	1.32	0.68	13.98	4.41	0.40	50.85
GS-5	1.73	미사질식양토	5.11	3.54	35.60	22	1.31	0.84	19.19	4.47	0.45	51.40
GS-6	1.87	미사질식양토	5.10	1.95	26.41	7	1.01	0.46	7.86	3.75	0.42	49.95
평균	1.70		5.13	2.68	31.56	18	1.31	0.68	15.21	4.20	0.45	50.06
C-1	1.84	미사질식양토	4.77	1.96	24.37	9	0.92	0.52	4.16	1.87	1.17	37.85
C-2	1.86	미사질식양토	4.76	2.38	23.31	8	0.77	0.50	4.62	1.81	0.22	38.90
C-3	1.83	미사질식양토	4.47	1.82	24.87	8	0.94	0.46	1.86	1.07	0.21	37.50
C-4	1.78	미사질식양토	4.60	2.01	25.24	8	0.88	0.51	4.30	2.10	0.23	40.95
C-5	1.86	미사질식양토	4.66	1.20	21.09	7	0.75	0.47	2.45	1.20	0.20	37.25
C-6	1.84	식토	4.57	3.10	26.40	20	0.83	0.55	5.09	2.27	0.21	35.85
평균	1.83		4.64	2.08	24.21	10	0.85	0.50	3.75	1.73	0.37	38.05

조사지의 평균 토양 pH는 애월 4.72, 구좌 5.13 및 대조구 4.64로 한라산 5·16 도로주변에서 토양 pH가 가장 낮았다. 이는 정 등(2002)이 보고한 제주 지역 산림토양 표토의 평균 토양 pH 5.3에 비해서 조사지 전체가 낮은 수치를 보였다. 류순호와 송관철(1984)에 의하면 미경지에서의 토양 pH는 일반적으로 낮으며 한라산국립공원에 속하는 갈색산림토에서도 토양 pH가 낮다는 보고와 일치하고 있다. 또한 해발고도에 따른 해안지방에서 산간지방으로 올라갈수록 pH가 낮다는 보고와도 유사하였으며, 고 등(2015)이 보고한 결과와도 일치하는 경향을 보였다. 전기전도도는 애월 6.43dS/m, 구좌 2.68dS/m 및 대조구 2.08dS/m로 대조구에서 가장 낮았으며 애월 꽃자왈에서 높았다. 대조구와 구좌 꽃자왈의 농도는 식물생육에 대한 염류집적의 영향은 없을 것으로 생각되나 애월 꽃자왈은 염류피해로 인한 식물생육에 영향을 줄 수도 있다고 생각된다. 전기전도도가 4dS/m 이상일 경우는 식물의 생육에 영향을 미칠 수 있는 기준값으로 보고 있다(류순호, 2000). 유기물함량은 애월 및 구좌 꽃자왈에서 각각 48.39%, 31.56%로 30% 이상의 높은 함량을 보였으며 대조구에서 24.21%의 함량을 보였다. 이는 정 등(2002)이 보고한 제주지역 산림토양의 평균 유기물함량 10.40%보다 약 2~4배 높은 수치이다. 화산회토양은 유효인산 함량이 매우 낮아 토양비옥도가 낮은 원인으로 알려져 있다. 조사지의 평균 유효인산함량은 대조구 및 구좌 꽃자왈에서 각각 10mg/kg, 18mg/kg으로 매우 낮은 함량을 보였다. 이에 비해 애월 꽃자왈의 유효인산함량은 98mg/kg로 다른 조사지보다 약 9배 높았다. 정 등(2002)은 제주지역 산림토양의 평균 유효인산함량을 표토 27.4mg/kg로 보고한 바 있는데 이에 비해서 꽃자왈 토양은 약 4배정도 함량이 높았다. 일반적으로 유기물함량이 높아지면 질소함량이 높아지는데 이는 유기물이 화산재에서 유래된 Al과 결합하면서 용탈에 대한 저항성이 있기 때문에 화산재가 많이 집적된 토양에서 질소함량도 높게 나타난다. Pearson 상관분석을 한 결과 본 조사지의 유기물함량과 총 질소함량과의 상관계수는 $r=0.91^{**}$ 로 매우 유의한 정의 상관관계를 보였다. 총 질소함량은 애월과 구좌 꽃자왈에서 각각 1.61%, 1.31%로 1%를 상회하는 함량을 보였으며, 대조구에서 0.85%였다.

조사지의 평균 교환성양이온 함량은 K 0.50~1.12cmol_c/kg, Ca 3.75~36.36cmol_c/kg, Mg 1.73~8.57cmol_c/kg 및 Na 0.37~0.46cmol_c/kg 범위였다. 정 등(2002)이 보고한 제주지역 산림토양의 평균 교환성양이온 K 0.34cmol_c/kg, Ca 2.07cmol_c/kg, Mg 1.97cmol_c/kg 및 Na 0.46cmol_c/kg과 비교했을 때 교환성 Na를 제외하고는 교

환성양이온 함량들이 매우 높았다. 특히 애월 꽃자왈의 교환성 K, Ca 및 Mg 함량이 매우 높았으며, 교환성 Ca는 36.36cmol_c/kg으로 매우 높게 나타났다. 이와 같이 꽃자왈 지역에서 교환성 Ca 함량이 매우 높았는데 생성연대가 오래지 않아 풍화가 덜 진행되어 모재의 영향에 의해 함량이 높은 것인지에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 판단된다. 양이온교환용량은 토양비옥도를 나타내는 지표로서 양이온교환용량이 클수록 양분보유능이 커지고 토양의 완충능이 커지며 양분을 보관하여 식물이 필요시에 공급할 수 있는 능력이 커진다(류순호, 2000). 조사지의 양이온교환용량은 애월 45.44cmol_c/kg, 구좌 50.06cmol_c/kg 및 대조구 38.05cmol_c/kg으로 양이온교환용량이 30cmol_c/kg 이상으로 매우 높았다. 이는 정등(2002)이 보고한 제주지역 산림토양의 평균 양이온교환용량 19.7cmol_c/kg보다 꽃자왈 지역에서 약 2배 내외로 높았다.

이와 같은 결과를 종합하면 조사지의 토양산도는 강산성으로 제주 산림토양의 평균 토양 pH 5.3보다 낮았으며, 구좌 꽃자왈과 대조구에서도 유효인산 함량이 10mg/kg 이하로 매우 낮았다. 반면에 다른 화학성분은 함량이 대체적으로 높은 것으로 나타났으나 애월 꽃자왈은 교환성 Ca 및 Mg가 매우 높아 식물 생장에 역효과로 작용할 수도 있는 것으로 생각되어 지속적인 모니터링이 필요하겠

다.

2. 꽃자왈 조사지의 토양미생물 다양성

그림 2에 pyrosequencing 분석으로 얻어진 꽃자왈 조사지의 세균 분포를 나타내었다. 꽃자왈 토양에 있어서 Actinobacteria는 애월 꽃자왈이 24.85%, 구좌 꽃자왈이 15.25%의 분포를 보였으며, 대조구 토양이 11.7%으로 꽃자왈 토양이 높았다. Actinobacteria 중에서도 우점하는 *Acidothermus* 속은 애월 꽃자왈 6.22%, 구좌 꽃자왈 3.57%, 대조구 5.38%의 분포를 보였다. 본 미생물은 주로 셀룰로스를 분해하는 것으로 알려져 있어서 용암숲 꽃자왈에서 그 역할이 중요할 것이다. 이는 꽃자왈의 큰 특징 중의 하나인 미기상(microclimate), 풍혈 등과 깊은 관련이 있을 것으로 추측되며 그 기능에 대한 구체적인 연구가 필요하다. 구좌 꽃자왈보다 애월 꽃자왈에 있어서 높은 분포를 보이는 Actinobacteria의 역할이 용암숲 꽃자왈의 생성 및 유지에 중요한 인자를 제공하고 있음을 알 수 있다.

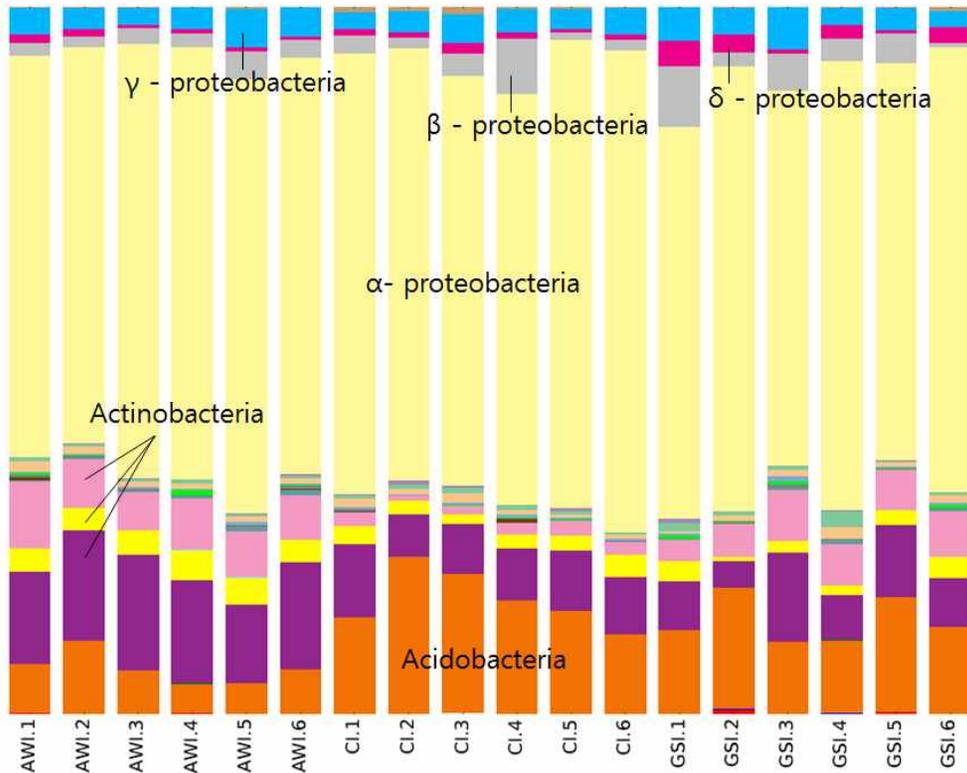


그림 2. Pyrosequencing으로 분석한 조사지 토양의 세균 분포
 AW : 애월 곳자왈, C : 대조구, GS : 구좌 곳자왈.

Acidobacteria는 애월 곳자왈 6.37%, 구좌 곳자왈 13.05%, 대조구 토양 16.20%의 분포를 보였다. 곳자왈 토양이 대조구 토양에 비해서 낮게 분포하였지만, 구좌 곳자왈이 대조구 토양과 거의 비슷하게 분포하였다. (그림 2). 그 중에서 *Candidatus Solibacter*는 애월 1.83%, 구좌 3.45%, 대조구 4.88%로 상당히 높은 수치를 나타냈다. 일반적으로 Acidobacteria는 산림토양뿐만 아니라 광범위한 환경에 분포하는 것으로 알려지고 있는데, 예를 들면 sediment, 온천, 산성 광산 호수, 깊은 심해, 동굴 등에도 분포하는 것으로 밝혀지고 있다 (Kielak et al., 2009; Naether et al., 2012).

전체적인 pyrosequencing의 결과로 두드러진 특징은 Alphaproteobacteria가 매우 높다는 것이었다. 애월 59.32, 구좌 59.02%, 대조구 토양이 62.38%를 보였다. 특히 그 중에서도 질소고정세균인 *Bradyrhizobium*을 포함하는

Rhizobiales가 애월 53.07%, 구좌 53.55%, 대조구 토양 54.92%이며, 꽃자왈과 대조구 양쪽 모두 높은 수치를 보였다(그림 2). 그중에서 우점을 보이는 Xanthobacteraceae 강(綱)은 애월 24.07, 구좌 24.05%, 대조구 27.42%의 분포를 보였다.

속(屬) 레벨에서 *Labrys miyagiensis*를 포함한 *Labrys* 속이 애월 0.20%, 구좌 0.07%, 대조구가 0.3%을 보였으며, uncultured *Pseudolabrys*가 애월 0.05%, 구좌 0.12%, 대조구 0.18%를 보인데 반해서, uncultured Xanthobacteraceae 속은 애월 18.52%, 구좌 18.83%, 대조구 20.52%로 아주 높은 분포를 보였다. 이와 같이 높은 분포를 보인 uncultured Xanthobacteraceae속에 대해서 현재로서는 비교가능한 정보가 부족하며, 다각도의 분석이 요구된다(그림 3).

Xanthobacteraceae (Family)

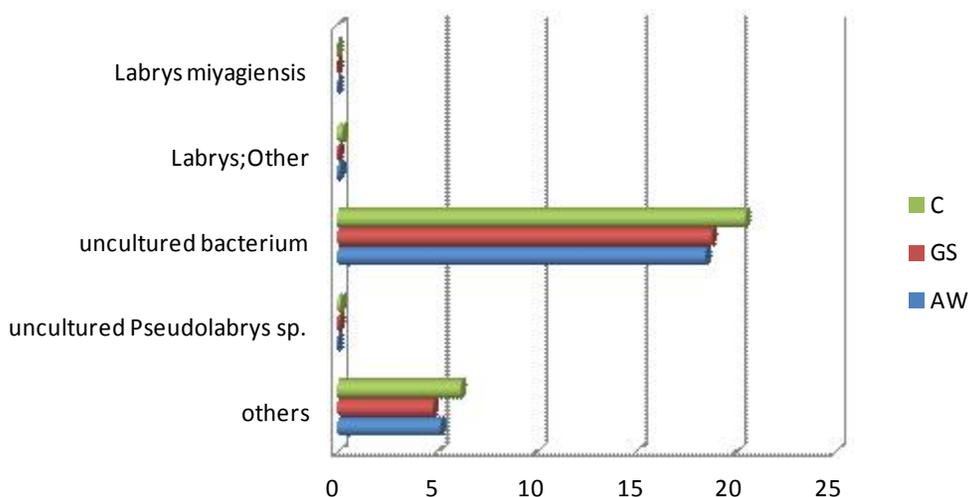


그림 3. 꽃자왈에 있어서 Xanthobacteraceae 綱의 분포.

또한 질소고정세균이 대량으로 검출되었는데, *Bradyrhizobium* 단일 속이 애월 18.4%, 구좌 14.43%, 대조구 13.52%로 꽃자왈 토양에서 높은 분포를 보임을 알 수 있었다. 조천-함덕의 교래 꽃자왈(JHKR)과 한경-안덕의 산양 꽃자왈(HASY) 토양 시료 분석에 있어서, 질소고정 유전자의 하나인 *nifH* 유전자의 pyrosequencing 결과에 따르면, 꽃자왈 토양과 대조구 토양이 구별될 뿐만 아

나라, 꽃자왈 토양과 하와이를 포함한 미국 토양의 pyrosequencing 결과가 완전히 구별되는 결과를 얻었다(Sul *et al.*, unpublished data). 이는 꽃자왈 토양 미생물이 아주 독특함을 설명하고 있다. 이와 같이 대조구 토양뿐만 아니라 용암숲 꽃자왈 토양에 있어서 질소고정 미생물 단일 속의 높은 분포는 꽃자왈 환경에서의 질소고정 활성이 활발히 발현된다는 것을 알 수 있다. GeoChip을 통해 인산 순환에 관련된 유전자의 발현에 큰 특이점을 발견하였는데 (unpublished data), 일반적으로 산림토양에는 인산의 유효능이 아주 부족해서 꽃자왈에서 인산의 순환에 대한 심화된 이해가 요구된다.

하와이 화산 토양이 특징인 *Ktedonobacter*는 애월 0.22%, 구좌 0.27%, 대조구 0.12%를 보여 하와이와 꽃자왈 토양과 유사성을 보였다. 이와 관련하여 하와이, 대만, 일본, 뉴질랜드 등지의 화산폭발에 의해서 생성된 화산섬에서의 토양미생물 비교 연구의 필요성을 제안하며, 향후 그 특징을 규명하여 꽃자왈의 세계적인 독특성을 규명하고자 한다.

OTU 분석에 따른 조사지의 세균에 대한 조작상 분류단위 수(operational taxonomic unit, OTU)의 분석결과, 종(97% homology) 레벨에서 애월 277, 구좌 175, 대조구 258의 결과를 보였다(표 4). 또한 세 지점에 대한 전체적인 관련성을 규명하기 위해서 그림 4와 같은 clustering 결과에서, 구좌 꽃자왈과 대조구 토양이 근린관계에 있는 반면에 애월 꽃자왈은 전체적인 유연관계가 멀다는 것을 알 수 있었다. 구좌 꽃자왈에는 상대적으로 토양층이 적게나마 존재하며, 대조구는 토양층이 있는 조면현무암 지대로서 유사성이 낮다. 이에 반해, 해발 510m인 애월, 650m인 대조구는, 공통적으로 온대 기후대이며, 낙엽활엽수림이므로 더 근린관계일 것으로 예상되었다. 하지만, 그림 4에서는 애월 꽃자왈보다는 구좌와 대조구 토양이 더 근린관계의 결과를 보였다. 이에 대해 진행중에 있는 여름, 가을, 겨울 토양 DNA의 분석 및 reads 수의 증가 등 추가연구를 통해서 보다 확실한 결과를 얻을 수 있을 것이다.

표 4. 군집 부유도 및 다양성

	OTUs	Chao1	Shannon	Simpson	Goods Coverage
AW-1	405	476.12676	6.5001669	0.9559402	0.974488507
AW-2	313	423	6.2423714	0.9437816	0.938202247
AW-3	210	351.42857	5.8611766	0.9434787	0.903381643
AW-4	229	309.71698	5.8616567	0.9418498	0.928240741
AW-5	234	383.875	6.1693796	0.9509844	0.892367906
AW-6	273	330.58065	6.0251274	0.9298127	0.950408401
GS-1	159	230.09091	6.0642201	0.9606489	0.887987013
GS-2	158	272	5.3832367	0.9356437	0.91611479
GS-3	179	266.07317	6.0949621	0.95782	0.871794872
GS-4	182	238.47727	5.5654763	0.9322381	0.931334623
GS-5	179	282.12121	5.7036234	0.9451654	0.911795962
GS-6	197	265.46667	5.6728537	0.9439936	0.934925865
C-1	313	383.5	6.2914206	0.964818	0.965718454
C-2	267	313.92857	5.9907066	0.9629538	0.973328462
C-3	278	349.51786	6.3867081	0.9709496	0.956521739
C-4	197	298.10811	5.7996148	0.9593337	0.933537051
C-5	284	361.78182	5.8939837	0.9521854	0.971269694
C-6	214	340.66667	5.6624745	0.9362445	0.931330472

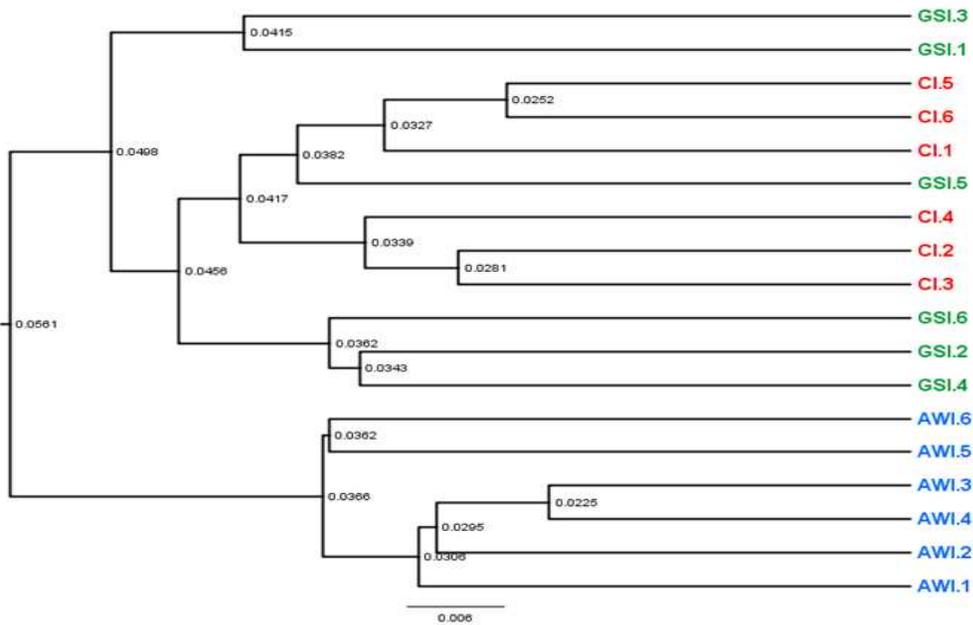


그림 4. Pyrosequencing 결과를 토대로 한 애월·구좌 꽃자왈의 clustering.

지금까지 얻어진 결과는 2015년 사계절 중에서 봄에 채취한 토양시료에 한해서 진행되었으며, Alphaproteobacteria의 uncultured Xanthobacteraceae속, *Bradyrhizobium*속, Actinobacteria의 *Acidothermus*속, Acidobacteria의 *Candidatus Solibacter* 등이 꽃자왈 토양에 있어서 우점하는 결과를 얻었다. 이들 우점하는 미생물들에 의해서 꽃자왈 숲의 생성, 유지에 중요한 인자인 탄소·질소·인 순환 등이 용암숲에의 영양공급에 관여하는 중요한 인자들을 제공하고 있을 가능성을 보였다. 사계절 토양미생물의 pyrosequencing 결과 및 꽃자왈에서의 토양미생물의 기능에 대한 연구가 추가적으로 진행된다면 보다 이해가 가능할 것이다. 이처럼 꽃자왈 지역에 대한 체계적이고 장기적인 연구로써 꽃자왈 생태계의 변화 추이와 꽃자왈의 독특성 및 지구생태계에서 그 역할을 도출해 낼 수 있을 것이다.

인용문헌

- 고석형, 김종식, 이영돈, 신창훈. 2015. 교래와 산양 꽃자왈의 계절별 토양특성과 미생물의 다양성. 제주특별자치도 세계유산·한라산연구원 조사연구보고서 제14호:201-226.
- 류순호. 2000. 토양사전. 서울대학교출판부. pp.730.
- 류순호, 송관철. 1984. 제주도 토양의 화학적 특성 조사연구- I. 시대별 화학적 특성 변화. 한국토양비료학회. 17(1): 1-6.
- 정진현, 구교상, 이충화, 김춘식. 2002. 우리나라 산림토양의 지역별 이화학적 특성. 한국임학회지. 91(6): 694-700.
- 제주특별자치도 한라산연구소. 2013. 꽃자왈 환경자원 조사 - V. 꽃자왈 토양 특성. 한라산연구소. p.184-216.
- Kielak A., Pijl A.S., van Veen J.A., Kowalchuk G.A. 2009. Phylogenetic diversity of Acidobacteria in a former agricultural soil. The ISME Journal. 3: 378-382.
- Kim J.S., Jung M.Y., Lee K.C., Kim D.S., Ko S.H., Lee J.S., Rhee S.K. 2014. The Archaea community associated with lava-formed Gotjawal forest soil in Jeju, Korea. Journal of Agricultural Chemistry and Environment. 3: 96-102.
- Kim J.S., Lee K.C., Kim D.S., Ko S.H., Jung M.Y., Rhee S.K., Lee J.S. 2015. Pyrosequencing analysis of a bacterial community associated with lava-formed soil from the Gotjawal forest in Jeju, Korea. Microbiology Open. 4: 301-312.
- Kim K.K., Lee K.C., Eom M.K., Kim J.S., Kim D.S., Ko S.H., Lee J.S. 2014. *Variibacter gotjawalensis* gen. nov., sp. nov., isolated from soil of a lava forest. Antonie van Leeuwenhoek. 105: 915-924.
- Lee K.C., Kim K.K., Eom M.K., Kim J.S., Kim D.S., Ko S.H., Lee J.S. 2015a. *Mucilaginibacter gotjawali* sp. nov., isolated from soil of a lava forest.

- International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology> 65: 952-958.
- Lee K.C., Kim K.K., Kim J.S., Kim D.S., Ko S.H., Yang S.H., Lee J.S. 2015b. *Cohnella collisoli* sp. nov., isolated from lava forest soil. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology> 65: 952-958.
- Lee K.C., Kim K.K., Kim J.S., Kim D.S., Ko S.H., Yang S.H., Kim S.G., Lee J.S. 2015c. *Sphingomonas vulcanisoli* sp. nov., isolated from soil of a lava forest. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology. 65: 952-958.
- Naether A., et al., 2012. Environmental factors affect Acidobacteria communities below the subgroup level in grassland and forest soils. Applied and Environmental Microbiology. 78(20): 7398-7406.
- NIAST. 2000. Methods of soil chemical analysis. National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon, Korea. p.35-131.
- Oksanen, J., F. Guillaume Blanchet, R. Kindt, P. Legendre, P. R. Minchin, R. B. O' Hara, et al. 2011. Vegan, Community Ecology Package. R package Version 2.0-0. Available at <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>(accessed December 2013).
- Pruesse, E., C. Quast, K. Knittel, B. M. Fuchs, W. Ludwig, J. Peplies, et al. 2007. SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. Nucleic Acids Res. 35:7188--7196.